

# 海岸植物数種の紅葉に含まれるアントシアニンの調査

加 藤 信 行

海岸で採集した海岸植物5種及びそれ以外の植物2種の紅葉に形成されるアントシアニンについて調べた。その結果、それらはほとんどシアニン系の色素であった。ハマゴウの紅葉から有機酸が結合したアントシアニン（アシルシアニン-3-モノグリコシド）がみい出されたが、これは木本植物の紅葉における最初の知見である。シアニン-3-ールチノシド、3-ザンブピオシド、3・5-ジグルコシド、そして3-トリグリコシドなど、糖が二つ以上結合したアントシアニンが半数近くみい出されたのは注目に値する。

## 1. はじめに

我国の種子植物におけるアントシアニンの性状とその分布に関する調査が、高山植物、山地植物、平地植物などの花、茎、紅葉、幼葉、さらに果実について広範に行われてきた。<sup>1)-9)</sup> また、百瀬らは、水生植物数種の切断葉を0.1 Mのショ糖液中、3000～4000 Lux 連続光下で培養し、そこに形成されたアントシアニンについて調べている。<sup>10),11)</sup> しかし海岸植物のアントシアニン調査は、ハマヒルガオの花、ハマナスの花、<sup>12)</sup> ハマエンドウとハマナタマメの花、<sup>7)</sup> ハマヒサカキやオオムラサキシキブの果実<sup>6)</sup> について行われているにすぎない。

海岸は紫外線や塩分の影響が強く、植物が生育するには大へん厳しい環境であり、そこに生育する植物は角質化、多肉化したものが多い。<sup>13)</sup> それゆえ、海岸植物が果してどのようなアントシアニン組成を示すかは大へん興味深い問題である。

そこで筆者は、海岸で採集した海岸植物5種及びそれ以外の植物2種の紅葉についてアントシアニン調査や組織学的観察を行ったので、その結果について報告する。

## 2. 材料と方法

### (1) アントシアニン調査

実験材料：この実験に用いた7種の材料は、おもに村上市瀬波と同市柏尾の海岸で採集した。

アントシアニンの抽出と純化：新鮮な紅葉をすばやく真空乾燥させたのち、粉末にして1%メタノール性塩酸で一晩冷浸した。ろ液を東洋ろ紙Na50 (40×40cm) の下端から5cmのところにくり返し帯状につけ、十分風乾させたのち、BAW [ブタノール/酢酸/水 (4:1:5, v/v)]、BuH-1 [ブタノール/塩酸/水 (7:2:5, v/v)]、またはAAH-1 [酢酸/塩酸/水 (3:1:8, v/v)] 等の展開溶剤を用いて展開した。風乾後、ろ紙上に分離した各色素帯を切り取り、80%メタノールに0.1%の割合で塩酸を加えた抽出液を用いて、下降法により溶出した。この操作を、同一または異なる展開溶剤を用いて二度くり返し、得られた溶出液を試料とした。以上の操作に用いたろ紙は、それに含まれる不純物を除去するために、一旦5%酢酸ついで水で下降法により洗浄した。

アントシアニンの Rf 値の測定：試料を可能な限り既知アントシアニンと併列して4枚のセルロース粉末薄層プレート（アビスル）に点着し，BAW，BuH-2〔ブタノール／2 N 塩酸（1：1，v/v）〕，AAH-2〔酢酸／塩酸／水（15：3：82，v/v）〕，1% 塩酸を用いて展開した。各クロマトグラム上のスポットの Rf 値と色調を調べた。

結合有機酸の有無の調査：試料に少量の水を加えたのち，水素気流中で10%水酸化ナトリウム水溶液を，色素溶液が青色になるまで滴加した。50分間室温で放置した後，黄褐色になった溶液に10%塩酸を徐々に加えて酸性にもどした。赤色になった溶液に等容のエーテルを加えて振蕩後静置した。下層の水層のみを分取し，水酸化ナトリウムを置いた真空デシケーター中で乾固した。残渣を少量のメタノールに溶し，塩を除去した。アルカリ処理前後の色素溶液について，BuHとAAH-1を用いて薄層クロマトグラフィーを行った。その処理によって，Rf 値が大幅に減少するか否かによって結合有機酸の有無を決定した。

アントシアニン調査：試料に等容の20%塩酸を加え，100℃で10分間加熱したのち，流水ですばやく冷却した。ろ液に少量の水とイソアミルアルコールを加え，アントシアニンを振取した。アントシアニンを含む有機層を，同時に2枚の薄層プレートに，シアニン，デルフィニン，マルビジン，ペオニン，ペチュニンと併列して点着した。それぞれを Forestal〔酢酸／塩酸／水（30：3：10，v/v）〕，FAH〔蟻酸／塩酸／水（5：2：3，v/v）〕で展開し，試料のスポットの Rf 値と色調を既知アントシアニンのものと比較した。

部分加水分解産物の調査：阿部と林<sup>14)</sup>が報告した部分加水分解によって，色素の結合糖数と結合位置を調べた。すなわち，試料に等容の20%塩酸を加え，70℃温湯上で120または170分間加熱した。加水分解の間，10分または20分間隔で溶液を少量取り，同時に2枚の薄層プレートに点着した。それぞれをBAWかBuH，およびAAH-1で展開し，二つのクロマトグラム上のスポットの消長を比較した。

結合糖の調査：アントシアニン調査や部分加水分解産物調査で残った酸性溶液のろ液を分液ろうとに取り，少量の水とイソアミルアルコールを加えて振蕩後，静置した。水層を水酸化ナトリウムを置いた真空デシケーターに入れ，減圧乾固した。残渣を少量の水に溶して展開用試料とした。試料をグルコース，アラビノース，ラムノース，キシロースの2%水溶液と併列して，東洋ろ紙No.51に点着し，展開溶剤〔ブタノール／ピリジン／水（6：4：3，v/v）〕を用いて展開した。スポットは，アニリン水素フタレート試薬，または硝酸銀試薬を用いて常法により発色させた。

## (2) 紅葉の組織学的観察

クロロフィルがほとんど分解し，鮮紅色を呈する葉を用いた。中肋を除く葉身の中央部を発泡スチロールの薄片にはさみ，フェザーカミソリの刃を用いて徒手切片を作った。水でマウントしたプレパラートを光学顕微鏡を用いて観察し，赤色色素が形成された部位とその紅化の度合を調べた。紅化の度合は，その部位に色素が形成された細胞が一様，散在，まれのいずれの程度に分布するかによって示した。また，色素が表皮と葉肉組織に形成される場合，両者の色調の強さを比較し，違いがあればそれを不等号で表わした。1枚の葉について10～20切片を観察し，3個体以上について調べた。同一植物について異なる鏡検結果が得られた場合には，最も紅化が進んでいる結果を記録した。

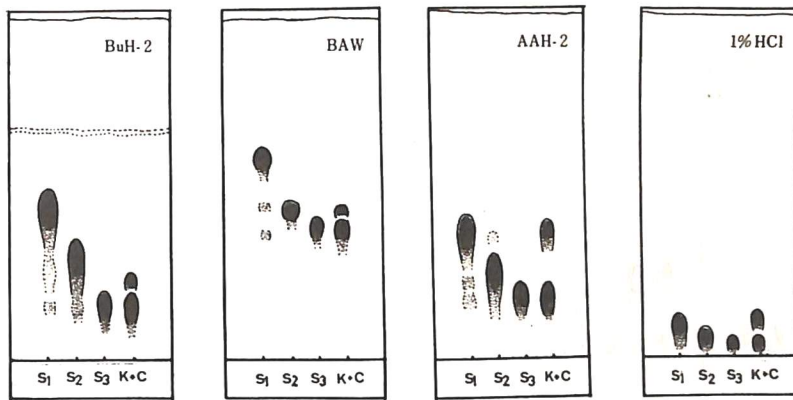


図1 ハマゴウの紅葉に含まれるアントシアニン ( $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ ) に関する二・三の調査結果を示すクロマトグラム (アビセルプレート, 約25℃, 展開溶剤については本文参照)。

a. Rf 値の調査, K: ケラシアニン C: クリサンテミン

### 3. 結果と考察

#### (1) アントシアニン調査

林と阿部<sup>3)</sup>は, ペーパークロマトグラフ法を用いておもに木本植物74種 (25科38属) の紅葉アントシアニンについて調べ, その大部分がシアニジン-3-モノグルコシド (クリサンテミン) のみを含むことを示した。筆者は, いままでほとんど調査されていなかった草本植物の紅葉に生じるアントシアニンについて調べた。そして, 木本植物の場合と同様にシアニジン配糖体が圧倒的に多く, しかも配糖体形式からみると3-モノグルコシドが最も多く生じること, しかし3-モノガラクトシドや3-ルチノシドが比較的多くみ出されること, 紅葉にもアシル化アントシアニンが存在すること, そして調査した植物の半数以上が2種類以上のアントシアニンを含むことなどから, 草本植物の紅葉の色素組成が複雑であるということを報告した。

今回の調査によってハマゴウの紅葉には3種類のアントシアニンが含まれることがわかった。それらを便宜的に  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  と名付けた。  $S_3$  の Rf 値はクリサンテミンのものと一致する (図1-a)。また図1-cより  $S_3$  のアグリコンはシアニジンであるといえる。よって  $S_3$  はシアニジン-3-モノグリコシドであると同定された。  $S_1$  をアルカリ処理すると, その Rf 値は著しく減少し,  $S_3$  の Rf 値と一致するようになる (図1-b)。また  $S_1$  の部分加水分解産物のクロマトグラムにおいて, 10分後初めのスポットがほとんど消失し, それ以降クリサンテミンと同じスポットの消長がみられることや, BuHを用いたクロマトグラムにおいて  $S_1$  のスポットが尾を引くという特徴 (図1-a, d) などから,  $S_1$  は  $S_3$  に有機酸が結合したアントシアニン (アシルシアニジン-3-モノグリコシド) であると同定された。アルカリ処理の結果 (図1-b) から,  $S_2$  も  $S_3$  に有機酸が結合したアントシアニンではないかと考えられる。しかし,  $S_2$  の部分加水分解産物のクロマトグラム (図1-e) にはその特徴がみられず, むしろ初めのスポットより Rf 値の大きいスポットが生じる。この問題は今後の課題として,  $S_2$  はシアニジン配糖体であると結論するにとどめる。



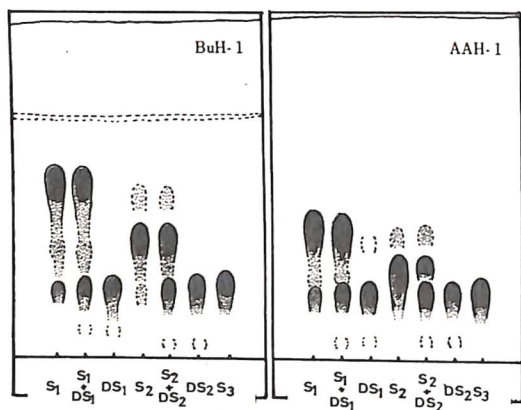


図1-b S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>の結合有機酸の有無の調査。  
DS<sub>1</sub>, DS<sub>2</sub>: S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>をアルカリ処理したもの。

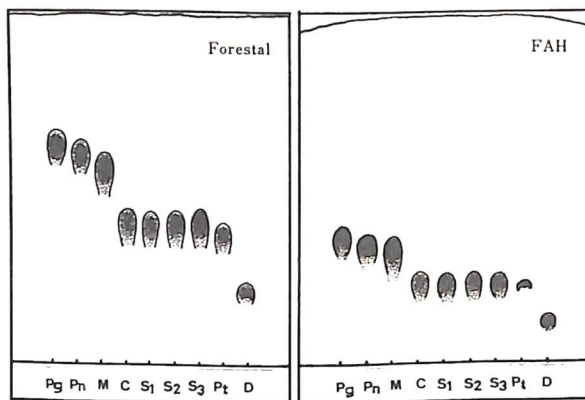


図1-c アントシアニン調査。アントシアニジンの略記号は表1参照。

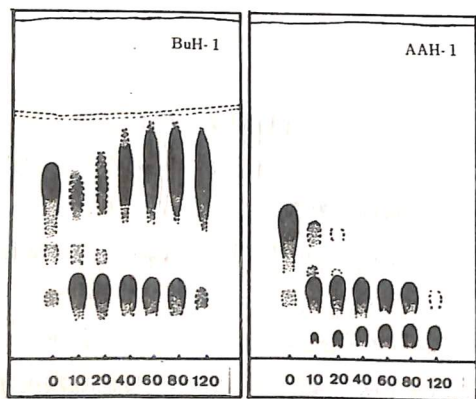


図1-d S<sub>1</sub>の部分分解産物調査。横軸は時間(分)。

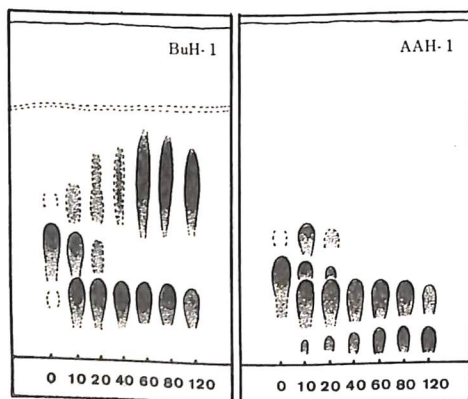


図1-e S<sub>2</sub>の部分分解産物調査。横軸は時間(分)。

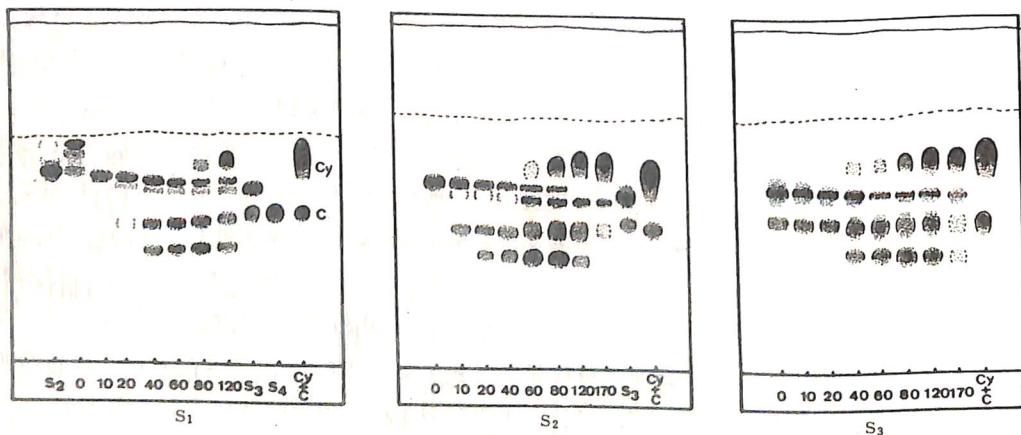


図2 エチゴトラノオの紅葉に含まれるアントシアニン(S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>)の部分分解産物調査の結果を示すクロマトグラム(アビセルプレート, 約25°C, BAW使用) C:クリサンテミン Cy:シアニン

エチゴトラノオの紅葉には4種類のシアニジン系のアントシアニンが含まれる。それらを便宜上 $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ ,  $S_4$ と名付けた。 $S_1 \sim S_3$ の部分加水分解産物のクロマトグラムを図2に示してある。この結果から、 $S_3$ は明らかにシアニジン-3-トリグリコシドであるといえる。また、 $S_2$ はシアニジン・テトラグリコシドであり、 $S_1$ はそのアシル化アントシアニンではないかと考えられた。 $S_4$ は、他の調査結果から、シアニジン-3-モノグリコシドであることがわかった。しかし、今回の調査には10cm平方の薄層プレートを用いたため、展開距離が短く、その結果スポットの分離が不十分であった。今後、その代りに20cm平方の薄層プレートを用いて色素分析を行い、今回の調査結果を再検討するつもりである。

他の紅葉植物のアントシアニン組成は次のようであった。キリンソウの主成分はクリサンテミンであ

表1 海岸で採集した紅葉植物のアントシアニンと色素局在型

供 試 植 物	色素局在型	ア ン ト シ ア ニ ン	採集月
Crassulaceae			
<i>Sedum kamtschaticum</i> *1 Fisher キリンソウ	$E_1 > M_4$	Cy 3-glucoside, Mv と Pn-glycoside	11月
<i>S. japonicum</i> Siebold *1 メノマンネングサ	$E_2 > M_4$	Cy 3-glucoside	5月
Rosaceae			
<i>Rosa rugosa</i> Thunb. ハマナス	$E_2$	Cy 3-glucoside	11月
Primulaceae			
<i>Lysimachia mauritiana</i> Lam. ハマボッサ	$M_3$ *2 ( $E_3 < M_3$ )	Cy 3-rutinoside と 3-glucoside, Dp-glycoside	11月
Verbenaceae			
<i>Vitex rotundifolia</i> Linn. fil. ハマゴウ	$E_2 M_2$	acyl Cy 3-glycoside, Cy-glycoside, Cy 3-glycoside	10月
Scrophulariaceae			
<i>Linaria japonica</i> Miq. ウンラン	$M_1$	Cy 3-sambubioside と 3-5-diglucoside, Cy-glycoside (2種類)	10月
<i>Veronica kiusiana</i> Furu- mi var. <i>maritima</i> (Na- kai) Yamazaki エチゴトラノオ	$E_2 < M_3$	acyl Cy-tetraglycoside (?), Cy-tetra- glycoside (?), Cy 3-triglycoside, Cy 3- glycoside	11月

\*1 海岸植物以外のもの \*2 葉辺における色素局在型

アントシアニンに関する略語: Cy, シアニジン; Mv, マルビジン; Pn, ペオニジン; Dp, デルフィニジン; 例 Cy 3-glucoside, シアニジン-3-モノグリコシド (クリサンテミン)。

色素局在型に関する略語:  $E_1$ , 上下両表皮に一樣に形成され、下面表皮よりも上面表皮の色調が強い;  $E_2$ , 上面表皮に一樣に形成され、下面表皮には散在程度に形成される;  $E_3$ , 上面または下面にまれに形成される;  $M_1$ , 柵状組織と海綿状組織に一樣に形成され、両者の色調の強さがほぼ等しい;  $M_2$ , 柵状組織に一樣に形成され、海綿状組織には散在程度に形成される;  $M_3$ , 最外層の柵状組織の細胞層に一樣に形成され、他の柵状組織の部位や海綿状組織には散在程度に形成される;  $M_4$ , 維管束鞘に形成される; 不等号 (>), 表皮と葉肉組織の色調の強さの違いを示し、不等号が開いた側の組織の色調の強さは他方のものよりも強いことを意味する; 例  $E_1 > M_4$ , 維管束鞘よりも上面表皮の色調が強い。

り、さらにマルビジンとペオニジン配糖体が共存した。メノマンネングサとハマナスにはクリサンテミンだけが含まれていた。ハマボスにはシアニジン-3-ールチノシド(ケラシアニン)とクリサンテミンが主成分として含まれていた。さらに、それらに少量のデルフィニジン配糖体が共存した。ウンランにはシアニジン-3-ザンブピオシドとシアニジン-3・5-ジグルコシド(シアニン)が多く含まれ、さらに2種類のシアニジン配糖体が共存した。以上の結果を表1に示してある。

海岸植物の花と果実には2~5種類の異なるアグリコンから成るアントシアニンが含まれているの<sup>2,6,7)</sup>に対して、その紅葉には、山地植物や平地植物の紅葉の場合と同様、シアニジン配糖体が圧倒的に多く生じる。しかし、二つ以上糖が結合したアントシアニンが半数近くみい出されるのは注目に値する。<sup>3)10)</sup>

## (2) 組織学的観察

表1の結果が得られた。アントシアニン<sup>15)16)</sup>が、紫外線などの強光を吸収して、細胞(葉緑体など)に対するその害作用を防御するという光説では、ハマボスの紅葉の色素局在型をうまく説明できない。

## 参考文献

- 1) 林孝三・阿部幸頼：ペーパークロマトグラフ法によるアントシアニン調査(Ⅲ)，高山植物のアントシアニンについて(独文)，*Bot. Mag. Tokyo* **69**，277~236(1956)
- 2) ————：ペーパークロマトグラフ法によるアントシアニン調査(Ⅰ)(独文)，*Misc. Rep. Inst. Natl. Resources* **29**，1~8(1935)
- 3) ————：ペーパークロマトグラフ法によるアントシアニン調査(Ⅱ)，紅葉の色素(英文)，*Bot. Mag. Tokyo* **68**，300~307(1955)
- 4) 上野直衛・竹村英一・林孝三：ペーパークロマトグラフ法による本邦フロラのアントシアニン調査の追加資料(Ⅳ)(英文)，*Bot. Mag. Tokyo* **82**，155~161(1969)
- 5) 吉玉国二郎・小作牧子・藤井美和子・林孝三：邦産被子植物の若葉に含まれるアントシアニンの調査(英文)，*Bot. Mag. Tokyo* **85**，303~306(1972)
- 6) 石倉成行・菅原敬信：被子植物の果実に含まれるアントシアニンの調査Ⅱ(英文)，*Bot. Mag. Tokyo* **92**，157~161(1979)
- 7) ————・伊藤節郎・柴田万年：ペーパークロマトグラフ法によるマメ科植物に生じるアントシアニンの調査Ⅲ，マメ科植物22種におけるアントシアニンの本体とその分布(英文)，*Bot. Mag. Tokyo* **91**，25~30(1978)
- 8) 吉玉国二郎・石井こずえ・安田斉：クロマトグラフ法による邦産植物に生じるアントシアニンの調査(英文)，*信州大学理学部紀要* **15**(1)，19~26(1980)
- 9) 加藤信行：草本植物の紅葉に含まれるアントシアニンについて，*日本植物学会第45回大会研究発表記録*，146(1980)
- 10) 百瀬忠征・安部恒三・吉玉国二郎：オオカナダモの葉から単離した5-O-メチルシアニジン-3-モノグルコシド(英文)，*Phytochemistry* **16**，1321(1977)
- 11) 百瀬忠征・吉玉国二郎：トチカガミ科植物に含まれるアントシアニン色素について，*日本植物学会第45回大会研究発表記録*，148(1980)
- 12) 斉藤規夫・鈴木省三・平林浩・知信好：バラ属のフラボノイド研究2，ハマナスの種間交雑植物について，*日本植物学会第45回大会研究発表記録*，145(1980)
- 13) 宮脇昭編：原色現代科学大事典3-植物，学習研究社，67(1967)
- 14) 阿部幸頼・林孝三：アントシアニン配糖体およびその部分的加水分解産物のペーパークロマトグラフ，*Bot. Mag. Tokyo* **69**，577~585(1956)
- 15) Onslow, M. A.: *The anthocyanin pigments of plants*，2版，129(1925)
- 16) 額綱理一郎：生理植物学，明文堂，233~234(1949)